

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۴، شماره ۳/ مرداد و شهریور ۱۳۹۱/ ۹۱-۸۱

مقاله پژوهشی

فراونی جهش های شایع DNA میتوکندریایی در ناشنوایی غیر سندرومی در استان های چهارمحال و بختیاری و بوشهر

دکتر مصطفی منتظر ظهور^۱، دکتر مرتضی هاشم زاده چالستری^۲، دکتر محمد تقی اکبری^۳*

^۱ مرکز تحقیقات ژنتیک بیماریهای غیر واگیر، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران؛ ^۲ مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم

پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ ^۳ گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۱۳ اصلاح نهایی: ۹۰/۹/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۲۵

چکیده:

زمینه و هدف: اگرچه اکثر ناشنوایی های غیر سندرومی ارثی به علت جهش در ژن های هسته ای می باشند، در سال های اخیر مشارکت مهم جهش های DNA میتوکندریایی (mtDNA) واضح تر شده است. مطالعه حاضر با هدف غربالگری جهش های شایع mtDNA شامل A1555G، C1494T، A3243G و A7445G در ناشنوایان اکتسابی و غیرسندرومی مغلوب اتوزومی پیش از زبان باز کردن در استان چهارمحال و بختیاری و ناشنوایان غیرسندرومی پس از زبان باز کردن در استان بوشهر انجام شده است.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی-آزمایشگاهی ۱۵۰ ناشنوای اکتسابی و مغلوب اتوزومی پیش از زبان باز کردن از استان چهارمحال و بختیاری و ۴۶ پروباند غیر خویشاوند با ناشنوایی غیرسندرومی پس از زبان باز کردن از استان بوشهر (با نتیجه منفی منفی برای جهش های GJB2) به روش آسان انتخاب شدند. نمونه ها با روش PCR-RFLP برای جهش های شایع mtDNA غربالگری شدند. جهش های مشاهده شده، برای تایید تعیین توالی گردیدند.

یافته ها: هیچکدام از جهش ها در ناشنوایان اکتسابی و غیرسندرومی مغلوب اتوزومی پیش از زبان باز کردن در استان چهارمحال و بختیاری یافت نشدند، لیکن جهش A1555G با فراوانی ۴/۳۵٪ در ناشنوایان غیر سندرومی پس از زبان باز کردن در استان بوشهر مشاهده شد.

نتیجه گیری: این بررسی نشان می دهد که جهش های میتوکندریایی نقش برجسته تری در منشاء ناشنوایی غیر سندرومی پس از زبان باز کردن در مقایسه با پیش از زبان باز کردن در جمعیت مورد مطالعه را ایفاء می کنند.

واژه های کلیدی: جهش، دی ان ای میتوکندریایی، ناشنوایی غیر سندرومی، ناشنوایی پس از تکلم.

مقدمه:

(DFNA) و ۱ درصد وابسته به X و میتوکندریایی هستند (۴). ناشنوایی پس از زبان باز کردن، در یک نفر از هر ۱۰۰۰ فرد قبل از بلوغ رخ می دهد (۲،۱).

ناشنوایی یک بیماری هتروژن از نظر علت شناسی، بالینی و ژنتیکی می باشد. تقریباً ۷۰ درصد نوزادان مبتلا به ناشنوایی ارثی، غیر سندرومی هستند. جهش های میتوکندریایی به نظر می رسد که در کمتر

ناشنوایی، شایع ترین بیماری در انسان است که ۱ الی ۳ نفر در هر ۱۰۰۰ نوزاد متولد شده را درگیر می کند (۲،۱). کاهش شنوایی می تواند قبل از زبان باز کردن (Prelingual) یا بعد از آن (Postlingual) آغاز شود (۳). کاهش شنوایی های غیر سندرومی Prelingual تقریباً ۸۰ درصد اتوزومی مغلوب (به صورت DFNB نشان داده می شود)، ۲۰ درصد اتوزومال غالب

* نویسنده مسئول: تهران-دانشگاه تربیت مدرس- دانشکده علوم پزشکی- گروه ژنتیک پزشکی- تلفن: ۸۲۸۸۳۸۳۱-۰۲۱، E-mail: mtabari@modares.ac.ir

از یک درصد کودکانی با ناشنوایی غیر سندرومی پیش از زبان باز کردن (Prelingual) وجود داشته باشد (۵). در جمعیت قفقازی نشان داده شده است که حداقل ۵ درصد موارد ناشنوایی پس از زبان باز کردن (Postlingual) بوسیله جهش های پاتوژنیک میتوکندریایی ایجاد می شوند (۶).

جهش ها در ژنوم میتوکندریایی ممکن است در حدود ۲۰ درصد موارد ناشنوایی ارثی پس از زبان باز کردن یافت شوند، لیکن این ممکن است به علت تفاوت های نژادی متغیر باشد (۷).

جهش A1555G در ژن 12S rRNA، یک علت شایع ناشنوایی غیر سندرومی با توارث مادری در تعدادی از جمعیت ها می باشد. این جهش می تواند همراه با ناشنوایی غیر سندرومی القاء شده در اثر آمینو گلیکوزید باشد (۸، ۹). علیرغم اینکه اکثریت جهش های بیماریزا، هتروپلاسمی هستند، A1555G اغلب به شکل هموپلاسمی در افراد مبتلا یا در معرض ریسک ناشنوایی وجود دارد (۱۰). جهش C1494T در ژن 12S rRNA همچنین می تواند باعث ناشنوایی غیر سندرومی شود و بیماریزایی این جهش بر اساس جفت شدن بازی با نوکلئوتید موقعیت ۱۵۵۵ ملکول mtDNA برای تغییر ساختار 12S rRNA بستگی دارد (۱۱).

A7445G در ژن tRNA^{Ser(UCN)} از دیگر جهش های شناخته شده می باشد که قبلاً در ارتباط با ناشنوایی غیر سندرومی گزارش شده است (۱۲، ۱۳، ۱۴). جهش A3243G در ژن tRNA^{Leu(UUR)} نیز یک علت شایع ناشنوایی غیر سندرومی و دیابت است (۱۵). تغییر A3243G به عنوان علت بیماری های نظیر

Maternally Inherited Diabetes and Deafness (MIDD)، Mitochondrial Encephalomyopathy Lactic Acidosis Syndrome (MELAS) و Progressive External Ophthalmoplegia (PEO) در تعدادی از بیماران گزارش شده است (۱۰) علیرغم مطالعات اخیر روی علت های ژنتیکی ناشنوایی غیر

سندرومی پیش از زبان باز کردن یا مادرزادی در زیر جمعیت و گروه های نژادی مختلف ایرانی (۲۲-۱۶)، اطلاعات درباره مشارکت جهش های میتوکندریایی در ناشنوایی غیر سندرومی پیش از زبان باز کردن (prelingual) و پس از زبان باز کردن (Postlingual) در ایران وجود ندارد. مطالعه حاضر با هدف تعیین فراوانی چهار جهش شناخته شده A7445G، A3243G، C1494T، A1555G در ناشنوایان اکتسابی و غیرسندرومی مغلوب اتوزومی پیش از زبان باز کردن در استان چهارمحال و بختیاری و ناشنوایان غیرسندرومی پس از زبان باز کردن در استان بوشهر طراحی شده است.

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی پس از تکمیل پرسشنامه و ارزیابی بالینی تعداد ۱۵۰ ناشنوای غیر سندرومی پیش از زبان باز کردن از استان چهارمحال و بختیاری [اکتسابی (۵۰ مورد) و اتوزومی مغلوب (۱۰۰ مورد)] و ۴۶ پروباند غیر خویشاوند با ناشنوایی غیر سندرومی پس از زبان باز کردن از استان بوشهر به روش آسان جمع آوری گردیدند. پس از اخذ رضایت نامه آگاهانه از کلیه افراد اطلاعات دموگرافیک بالینی آنها از طریق پرسشنامه جمع آوری و از هر فرد به میزان ۵ میلی لیتر خون در لوله های حاوی EDTA (۵/۰۰/۵) (مولار) گرفته شد. سپس DNA به روش معمول فنل - کلروفرم استخراج گردیده و غلظت DNA استخراج شده با روش اسپکتروفتومتری (UNICO 2100, USA) اندازه گیری شد (۲۴، ۲۳).

با استفاده از توالی ژنوم میتوکندریایی با رمز دسترسی NC_012920 و نرم افزار Primer 3، توالی های پرایمرهای Forward و Reverse برای تشخیص چهار جهش ملکول mtDNA طراحی و از شرکت ژن فن آوران ایران خریداری گردید (جدول

شماره ۱). انجام PCR جهت بررسی جهش های میتوکندریایی A3243G، C1494T، A1555G و A7445G بر روی نمونه های DNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (TECHNE TC -512 UK) طبق واکنش و برنامه حرارتی زیر انجام شد.

شرایط واکنش PCR برای چهار جهش یکسان و بدین ترتیب هر میکروتیوب PCR برای هر جهش شامل ۰/۵ میکرو لیتر پرایمر F (10 PM)، ۰/۵ میکرو لیتر پرایمر R (10 PM)، ۰/۵ میکرو لیتر آنزیم Taq پلیمرز (5 unit/μl) و ۰/۵ میکرو لیتر Taq mix dNTP (10 mM)، ۲/۵ میکرو لیتر از بافر PCR (10X)، ۱/۵ میکرو لیتر MgCl₂ (50mM) و ۱ میکرو لیتر از DNA (100 ng) بود که با آب مقطر به حجم نهایی ۲۵ میکرو لیتر رسید.

برنامه حرارتی برای جهش های A1555G و C1494T شامل: واسرشت اولیه در ۹۵°C به مدت ۴

دقیقه، سپس ۳۲ سیکل شامل: واسرشت دمای ۹۴°C به مدت ۵۰ ثانیه، دمای ۵۸°C جهت اتصال پرایمرها به DNA هدف به مدت ۵۰ ثانیه، ۷۲°C جهت گسترش رشته های مکمل به مدت ۵۰ ثانیه و سرانجام گسترش نهایی در ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه بود. برنامه حرارتی برای جهش های A7445G و A3243G شامل: واسرشت اولیه در ۹۵°C به مدت ۴ دقیقه، سپس ۲۵ سیکل شامل: واسرشت دمای ۹۴°C به مدت ۵۰ ثانیه، دمای ۶۰°C جهت اتصال پرایمرها به DNA هدف به مدت ۵۰ ثانیه، ۷۲°C جهت گسترش رشته های مکمل به مدت ۵۰ ثانیه و سرانجام گسترش نهایی در ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه.

پس از آن الکتروفورز محصولات PCR روی ژل ۸ درصد پلی اکریل آمید (۲۹:۱) بیس اکریل آمید/اکریل آمید) با ولتاژ ۲۰۰ ولت و شدت جریان ۴۰ میلی آمپر به مدت یک ساعت انجام گردید. سپس ژل های پلی اکریل آمید با روش نترات نقره

جدول شماره ۱: توالی پرایمرها و مشخصات محصولات PCR و آنزیم های محدودگر، هر جفت پرایمر مورد استفاده در تشخیص جهش های میتوکندریایی

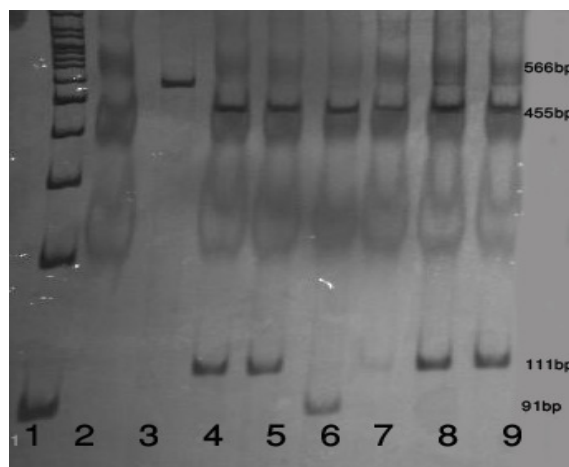
نوع جهش مورد بررسی	توالی پرایمر ها	دمای اتصال پرایمر (°C)	اندازه محصول PCR (bp)	آنزیم محدودگر مربوط به جهش	طول قطعات هضم شده در نمونه های افراد بیمار فاقد جهش (bp)	طول قطعات هضم شده در نمونه های افراد بیمار دارای جهش (bp)
A1555G	F 5'-CAC AAA ATA GAC TAC GAA AGT GGC-3' R 5'-ACT TAC CAT GTT ACG ACT GG-3'	۵۸	۵۶۶	HaeIII	۴۵۵	۴۵۵
					۱۱۱	۹۱
					۲۲۸	۲۰
C1494T	F 5'-CAC AAA ATA GAC TAC GAA AGT GGC-3' R 5'-ACT TAC CAT GTT ACG ACT GG-3'	۵۸	۵۶۶	HphI	۲۲۸	۲۲۸
					۲۵۵	۳۳۸
					۸۳	
A3243G	F 5'-CCT CCC TGT ACG AAA GGA C-3' R 5'-GCG ATT AGA ATG GGT ACA ATG-3'	۶۰	۲۳۸	HaeIII	۱۶۹	۹۷
					۳۷	۷۲
					۳۲	۳۷
A7445G	F 5'-GAG AAG CCT TCG CTT CGA AG-3' R 5'-GAG GGC GTG ATC ATG AAA GGT G-3'	۶۰	۳۴۸	XbaI	۲۲۹	۳۴۸
					۱۱۹	

یافته ها:

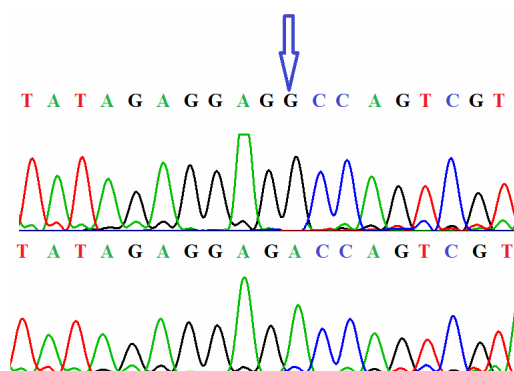
در ۱۵۰ نمونه ناشنوایان اکتسابی و غیرسندرومی مغلوب اتوزومی پیش از زبان باز کردن در استان چهارمحال و بختیاری، هیچ کدام از جهش‌های A1555G، C1494T، A3243G و A7445G یافت نشد. جهش A1555G بصورت هموپلاسمی در ۲ مورد از ۴۶ پروباند ناشنوایان غیرسندرومی پس از زبان باز کردن در استان بوشهر (فراوانی ۴/۳۵٪) مشاهده شد. جهش A1555G مورد نظر باعث می شود که قطعه ۱۱۱ جفت بازی با تبدیل A به G در موقعیت ۱۵۵۵ ژن 12SrRNA، یک جایگاه اضافی برای آنزیم HaeIII تشکیل گردد و قطعه ۱۱۱ جفت بازی نیز به دو قطعه ۹۱ و ۲۰ جفت بازی تبدیل می گردد (تصویر شماره ۱). نتایج فوق با روش تعیین توالی مستقیم (Direct Sequencing) مورد بررسی و تایید قرار گرفت (تصویر شماره ۲).

رنگ آمیزی شد تا وجود باند با اندازه ۵۶۶ bp برای شناسایی جهش A1555G و C1494T، ۲۳۸ bp برای شناسایی جهش A3243G و ۳۴۸ bp برای شناسایی جهش A7445G تایید گردند.

به منظور بررسی وجود جهش ها از روش PCR-RFLP طبق پروتکل شرکت فروشنده آنزیم های محدود گر انجام شد (Fermentaz Co.). بدین منظور، از هر نمونه محصول PCR به حجم ۱۰ میکرولیتر برداشته و با ۰/۵ میکرولیتر آنزیم محدودگر مربوط به جهش مورد نظر، ۲ میکرولیتر بافر R و ۷/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه در یک میکروتیوب مخلوط کرده و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷°C در انکوباتور قرار داده تا آنزیم جایگاه تشخیص اختصاصی خود را برش دهد (جدول شماره ۱). سپس نمونه ها را بر روی ژل پلی اکریل آمید ۱۲ درصد به مدت ۳ ساعت و با ولتاژ ۲۰۰ ولت الکتروفورز نموده و ژل به دست آمده توسط نیترات نقره رنگ آمیزی گردید.



تصویر شماره ۱: محصولات PCR-RFLP بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸٪ جهت بررسی جهش A1555G. باند ۱- مارکر، باند ۲- کنترل منفی (بدون DNA)، باند ۳- نمونه محصول PCR فاقد آنزیم (uncut)، باند های ۴-۵ و ۶-۷ نمونه های بیماران فاقد جهش A1555G، باند ۶- بیمار حامل جهش A1555G (حالت هموپلاسمی). قطعه ۲۰ جفت بازی از ژل خارج شده است.



تصویر شماره ۲: نتایج تعیین توالی ژن 12SrRNA میتوکندریایی جهش A1555G توالی جهش یافته (بالا) که جهت پیکان تغییر A1555G را نشان می دهد، توالی نرمال (پایین).

جدول شماره ۲: خصوصیات بالینی و ملکولی افراد مبتلا حامل جهش شناخته شده پاتولوژیکی A1555G در ژن 12SrRNA در جمعیت استان بوشهر

T238RNA در بیماری اسن بوسهر										
بیمار	متغیر	جنس	سن بروز (سال)	گوش راست (dB)	گوش چپ (dB)	در معرض آمیوگلیکوزید	سابقه خانوادگی ناشنوایی و وجود A1555G	حالت جهش A1555G	وجود جهش در اعضا سالم خانواده	وجود جهش Gjb2
B50	مرد	۷	۷۳	۷۱	خیر	بله ۷ مورد و مثبت برای A1555G	هوموپلاسمی	بلی در همه بجز پدر	منفی	
B51	مرد	۵	۱۰۰	۹۶	خیر	بله ۳ مورد و مثبت برای A1555G	هوموپلاسمی	بلی در همه بجز پدر	منفی	

فنوتیپ افراد حامل جهش A1555G از نظر شدت و سن بروز ناشنوایی بسیار متغیر بود و همچنین، جهش A1555G در مادر دو پروباند، تمام خواهر و برادران شنوا و ناشنوا بجز پدر خانواده مشاهده شد (جدول شماره ۲).

بحث:

جهش های mtDNA همراه با ناشنوایی ارثی معمولاً در ژن های کد کننده دستگاه سنتز پروتئین رخ می دهد که شامل rRNA ها و tRNA ها می باشد. جهش های متنوع mtDNA مسبب ناشنوایی پیشرونده غیر سندرومی با الگوی توارث مادری

شناسایی شده اند (۱۰). جهش ها در ژن 12SrRNA و tRNA^{ser(UCN)} دلیل اکثر موارد ناشنوایی غیر سندرومی با الگوی توارث مادری است (۱۵-۱۰). در این مطالعه، جهش A1555G بصورت هوموپلاسمی با فراوانی ۴/۳۵ درصد ناشنوایان غیر سندرومی پس از زبان باز کردن در استان بوشهر مشاهده شد، لیکن در هیچ یک از ناشنوایان اکتسابی و غیر سندرومی مغلوب اتوزومی پیش از زبان باز کردن در استان چهارمحال و بختیاری مشاهده نشد. جهش های C1494T، A3243G و A7445G در نمونه های ناشنوای دو استان مورد مطالعه یافت نشدند. با مقایسه کردن فراوانی جهش های شایع میتوکندریایی در ناشنوایان دو استان مورد مطالعه،

نتیجه گرفته می شود که نقش جهش های میتوکندریایی در ناشنوایی پس از زبان باز کردن نسبت به ناشنوایی پیش از زبان باز کردن برجسته تر و با اهمیت تر است. مطالعه ما نشان داد که فنوتیپ افراد حامل جهش A1555G از نظر شدت و سن بروز ناشنوایی بسیار متغیر بود و همچنین، جهش A1555G در مادر دو پروباند، تمام خواهر و برادران شنوا و ناشنوا بجز پدر خانواده دو مشاهده شد که نشان دهنده توارث مادری، نفوذ ناقص و بروز فنوتیپی بسیار متغیر این جهش است. این نتایج نشان می دهد که جهش A1555G برای بیمارزایی به تاثیر فاکتور های دیگر شامل هاپلوتاایپ میتوکندریایی، ژن های تعدیل کننده (Modifier genes) و عوامل محیطی نیاز دارد. شایع ترین جهش 12SrRNA، جهش A1555G است که در خانواده های متعدد با زمینه های قومیتی متفاوت شناسایی شده اند. در واقع این اولین جهشی بود که نشان داده شد باعث ناشنوایی غیر سندرومی در انسان می شود که امروزه در صدها خانواده سراسر دنیا پیدا شده است و به عنوان یکی از شایع ترین علت های ژنتیکی ناشنوایی مطرح است. جهش A1555G اولین بار در یک شجره عرب اسرائیلی توضیح داده شده که اکثر اعضاء خانواده دارای ناشنوایی حسی عصبی با بروز شدید یا بسیار شدید در طول کودکی بودند لیکن یک اقلیت از اعضاء خانواده بروز این بیماری را در طول کودکی یا اوائل بلوغ داشتند (۲۵). جهش A1555G سپس در دیگر خانواده ها که قبلاً در معرض آمینوگلیکوزیدها قرار گرفته بودند، گزارش شدند. با وجود این، بعد از آن شجره هایی در ژنر، اسپانیا و ایتالیا با اعضاء خانواده ناشنوا با یا بدون در معرض قرار گرفتن آمینوگلیکوزیدها توضیح داده شدند (۲۹-۲۶). جهش A1555G می تواند در ۰/۶ تا ۲/۵ درصد جمعیت بالینی قفقازی با ناشنوایی غیر سندرومی پیدا شود، گرچه فراوانی آن بویژه در

جمعیت اسپانیا بالاست (۷). در جمعیت های آسیایی بروز جهش A1555G نیز بالاست که شامل: ۲/۹ درصد در چین (۳۰)، ۳ درصد در ژاپن (۳۱) و ۵/۳ درصد (۳۲) در اندونزی می باشد. معمولاً جهش A1555G به حالت هوموپلاسمی رخ می دهد، لیکن در تعدادی از خانواده ها به حالت هتروپلاسمی نیز شناسایی شده است (۳۳، ۲۸). با وجود این هیچ ارتباط واضح و مشخص بین بار جهش (Mutation Load) و شدت ناشنوایی وجود ندارد.

فراوانی A1555G در ناشنوایی ارثی اسپانیا حدود ۲۷/۱ درصد می باشد که البته در خانواده های ناشنوایی پیشرونده در حدود ۵۵/۹ درصد است (۲۷، ۷). فراوانی A1555G در جمعیت ناشنوایی ارثی تونس در حدود ۱ درصد بود (۳۴). بطور کلی فراوانی A1555G در ناشنوایان ارثی غیر سندرومی قبل از زبان باز کردن در ترکیه حدود ۱/۸ درصد بود (۳۵). مطالعه ای در انگلستان نشان داد که جهش های میتوکندریایی در حدود ۳۰ درصد موارد ناشنوایی با توارث مادری مشاهده می شود و همچنین این جهش باعث حدود ۲ درصد موارد در ناشنوایی با بروز مادرزادی می باشد (۳۶). فراوانی A1555G در جمعیت تایوان حدود ۳/۲ درصد ناشنوایی غیر سندرومی می باشد (۳۷). در مطالعاتی در فنلاند و ژاپن روی افراد ناشنوا با همه طیف سنی نشان داد که جهش های میتوکندریایی در ۶/۸ و ۸/۵۰ درصد موارد ناشنوایی حسی عصبی غیر سندرومی پیدا می شود (۳۸، ۳۹). بروز فنوتیپی جهش A1555G خیلی متغیر است که شامل موارد ناقلین با شنوایی نرمال تا ناقلین با ناشنوایی مطلق می شوند (۴۰). ناشنوایی در موارد مبتلا سن بروز و شدت متغیر را نشان می دهد که تعدادی افراد در بدو تولد ناشنوا هستند در حالی که دیگران یک ناشنوایی پیشرونده آهسته در سن بروز بلوغ را نشان می دهند. متغیر بودن فنوتیپ A1555G دلالت بر فاکتورهای دیگر موثر بر

فراوانی ۴/۳۵ درصد مشاهده شد که مشابه جمعیت ایتالیا و انگلستان بود (۶).

نتیجه گیری:

این مطالعه، بطور کلی نشان می دهد که جهش های میتوکندریایی در بروز فنوتیپ ناشنوایی پس از زبان باز کردن نقش قابل اهمیت دارد و باید در مشاوره ژنتیک در خانواده های مرتبط با ناشنوایی به عنوان یک امر ضروری در نظر گرفته شود. مطالعات گسترده در جمعیت نوزادان تازه به دنیا آمده می تواند به دقتی تر شدن فراوانی جهش های میتوکندریایی کمک شایانی کند. بعلاوه پیچیدگی خاص بروز فنوتیپی، الگوی توارث و درگیری عامل های دیگر در بروز و شدت فنوتیپ در جهش های میتوکندریایی، باید توجه خاصی به مشاوره ژنتیک برای خانواده های ناشنوایان حامل جهش میتوکندریایی انجام داد.

تشکر و قدردانی:

این مطالعه در مرکز تحقیقات سلولی، ملکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شده است، لذا از مساعدت و همکاری مدیریت و پرسنل این مرکز قدردانی می گردد.

ظهور فنوتیپی جهش های mtDNA را دارد که بر سن بروز و پیشرونده ناشنوایی اثر می گذارد.

آنتی بیوتیک آمینوگلیکوزید، هاپلوتاپ میتوکندریایی و ژن های تعدیل کننده هسته ای (Nuclear Modifier genes) بعنوان سه عامل تعدیل کننده عمده برای ظهور فنوتیپی جهش های ۱۲S rRNA همراه با ناشنوایی پیشنهاد می شوند. در فقدان در معرض قرار گرفتن آمینوگلیکوزید، جهش A1555G یک فنوتیپ بالینی را تولید می کنند که بطور قابل ملاحظه ای میان اعضاء خانواده تغییر می کند و از ناشنوایی مادرزادی شدید تا ناشنوایی پیشرونده متوسط با سن بروز بلوغ تا شنوایی کاملاً نرمال متغیر است (۷). نفوذ بین خانواده های حامل جهش A1555G تفاوت می کند.

بطور کلی، با توجه به این مطالعه، فراوانی جهش A1555G در جمعیت استان چهارمحال و بختیاری صفر درصد است که پایین تر از فراوانی جهش ذکر شده در جمعیت های دیگر است. البته چون اکثر موارد ناشنوایی مورد بررسی در سن کودکی قبل از زبان باز کردن می باشد، این فراوانی مشابه فراوانی در جمعیت های ناشنوا با سن پائین تر و قبل از زبان باز کردن است. جهش A1555G در جمعیت ناشنوایان پس از زبان باز کردن بوشهر با

منابع:

1. Morton NE. Genetic epidemiology of hearing impairment. Ann N Y Acad Sci. 1991; 630: 16-31.
2. Morton CC, Nance WE. Newborn hearing screening--a silent revolution. N Engl J Med. 2006 May; 354(20): 2151-64.
3. Willems PJ. Genetic causes of hearing loss. N Engl J Med. 2000 Apr; 342(15): 1101-9.
4. Smith RJH, Green GE, Van Camp G. Deafness and hereditary hearing loss Overview In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, Adam MP. Gene Reviews™ Seattle (WA): University of Washington, Seattle.[Internet]. 1993[cited 2012] available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

5. Marazita ML, Ploughman LM, Rawlings B, Remington E, Arnos KS, Nance WE. Genetic epidemiological studies of early-onset deafness in the U.S. school-age population. *Am J Med Genet.* 1993 Jun; 46(5): 486-91.
6. Jacobs HT, Hutchin TP, Kappi T, Gillies G, Minkinen K, Walker J, et al. Mitochondrial DNA mutations in patients with postlingual, nonsyndromic hearing impairment. *Eur J Hum Genet.* 2005 Jan; 13(1): 26-33.
7. Estivill X, Govea N, Barceló E, Badenas C, Romero E, Moral L, et al. Familial progressive sensorineural deafness is mainly due to the mtDNA A1555G mutation and is enhanced by treatment of aminoglycosides. *Am J Hum Genet.* 1998 Jan; 62(1): 27-35.
8. Fischel-Ghodsian N, Prezant TR, Bu X, Oztas S. Mitochondrial ribosomal RNA gene mutation in a patient with sporadic aminoglycoside ototoxicity. *Am J Otolaryngol.* 1993 Nov-Dec; 14(6): 399-403.
9. Fischel-Ghodsian N. Genetic factors in aminoglycoside toxicity. *Ann N Y Acad Sci.* 1999 Nov; 884: 99-109.
10. Kokotas H, Petersen MB, Willems PJ. Mitochondrial deafness. *Clin Genet.* 71(5): 379-91.
11. Zhao H, Li R, Wang Q, Yan Q, Deng JH, Han D, et al. Maternally inherited aminoglycoside-induced and nonsyndromic deafness is associated with the novel C1494T mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in a large Chinese family. *Am J Hum Genet.* 74(1): 139-52.
12. Reid FM, Vernham GA, Jacobs HT. A novel mitochondrial point mutation in a maternal pedigree with sensorineural deafness. *Hum Mutat.* 3(3): 243-7.
13. Seviour KB, Hatamochi A, Stewart IA, Bykhovskaya Y, Allen-Powell DR, Fischel-Ghodsian N, et al. Mitochondrial A7445G mutation in two pedigrees with palmoplantar keratoderma and deafness. *Am J Med Genet.* 75(2): 179-85.
14. Levinger L, Jacobs O, James M. In vitro 3'-end endonucleolytic processing defect in a human mitochondrial tRNA(Ser(UCN)) precursor with the U7445C substitution, which causes non-syndromic deafness. *Nucleic Acids Res.* 2001 Nov; 29(21): 4334-40.
15. van den Ouweland JM, Lemkes HH, Ruitenbeek W, Sandkuijl LA, de Vijlder MF, Struyvenberg PA, et al. Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. *Nat Genet.* 1992 Aug; 1(5): 368-71.
16. Najmabadi H, Nishimura C, Kahrizi K, Riazalhosseini Y, Malekpour M, Daneshi A, et al. GJB2 mutations: passage through Iran. *Am J Med Genet A.* 2005 Mar; 133A(2): 132-7.
17. Hashemzadeh Chaleshtori M, Montazer Zohour M, Hoghooghi Rad L, Pour-Jafari H, Farhud DD, Dowlati M, et al. Autosomal recessive and sporadic non syndromic hearing loss and the incidence of Cx26 mutations in a province of Iran. *Iranian J Publ Health.* 2006; 35: 88-91.
18. Hashemzadeh Chaleshtori M, Farhud DD, Patton MA. Familial and sporadic GJB2-related deafness in Iran: Review of gene mutations. *Iranian J Pub Health.* 2007; 36(1): 1-14.
19. Bonyadi M, Esmaeili M, Abhari M, Lotfi A. Mutation analysis of familial GJB2-related deafness in Iranian Azeri Turkish patients. *Genet Test Mol Biomark.* 2009; 13(5): 689-92.
20. Tabatabaiefar MA, Alasti F, Shariati L, Farrokhi L, Fransen E, Nooridalooi MR, et al. DFNB93, a novel locus for autosomal recessive moderate-to-severe hearing impairment. *Clin Genet.* 2011; 79(6): 594-98.
21. Mahdieh N, Rabbani B, Wiley S, Akbari MT, Zeinali S. Genetic causes of nonsyndromic hearing loss in Iran in comparison with other populations. *J Hum Genet.* 2010; 55: 639-48.
22. Tabatabaiefar MA, Alasti F, Montazer Zohour M, Shariati L, Farrokhi E, Farhud D, et al. Genetic linkage analysis of 15 DFNB Loci in a group of Iranian families with autosomal recessive hearing loss. *Iranian J Publ Health.* 2011; 40(2): 34-48.

23. Grimberg J, Nawoschik S, Belluscio L, McKee R, Turck A, Eisenberg A. A simple and efficient non-organic procedure for the isolation of genomic DNA from blood. *Nucleic Acids. Res.* 1989 Oct; 17(20): 8390.
24. Kleihues P, Schauble B, Zur Hausen A, Estève J, Ohgaki H. Tumors associated with p53 germline mutations: a synopsis of 91 families. *Am J Pathol.* 1997; 150(1): 1-13.
25. Prezant TR, Agapian JV, Bohlman MC, Bu X, Oztas S, Qiu WQ, et al. Mitochondrial ribosomal RNA mutation associated with both antibiotic-induced and non-syndromic deafness. *Nat Genet.* 1993 Jul; 4(3): 289-94.
26. Matthijs G, Claes S, Longo-Mbenza B, Cassiman JJ. Non-syndromic deafness associated with a mutation and a polymorphism in the mitochondrial 12S ribosomal RNA gene in a large Zairean pedigree. *Eur J Hum Genet.* 1996; 4(1): 46-51.
27. Torroni A, Cruciani F, Rengo C, Sellitto D, Lopez-Bigas N, Rabionet R. The A1555G mutation in the 12S rRNA gene of human mtDNA: recurrent origins and founder events in families affected by sensorineural deafness. *Am J Hum Genet.* 1999 Nov; 65(5): 1349-58.
28. el-Schahawi M, López de Munain A, Sarrazin AM, Shanske AL, Basirico M, Shanske S, et al. Two large Spanish pedigrees with nonsyndromic sensorineural deafness and the mtDNA mutation at nt 1555 in the 12s rRNA gene: evidence of heteroplasmy. *Neurology.* 1997 Feb; 48(2): 453-6.
29. Matsunaga T, Kumanomido H, Shiroma M, Goto Y, Usami S. Audiological features and mitochondrial DNA sequence in a large family carrying mitochondrial A1555G mutation without use of aminoglycoside. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2005 Feb; 114(2): 153-60.
30. Li Z, Li R, Chen J, Liao Z, Zhu Y, Qian Y, et al. Mutational analysis of the mitochondrial 12S rRNA gene in Chinese pediatric subjects with aminoglycoside-induced and non-syndromic hearing loss. *Hum Genet.* 2005 Jun; 117(1): 9-15.
31. Usami S, Abe S, Akita J, Namba A, Shinkawa H, Ishii M, et al. Prevalence of mitochondrial gene mutations among hearing impaired patients. *J Med Genet.* 2000 Jan; 37(1): 38-40.
32. Malik SG, Pieter N, Sudoyo H, Kadir A, Marzuki S. Prevalence of the mitochondrial DNA A1555G mutation in sensorineural deafness patients in island Southeast Asia. *J Hum Genet.* 2003; 48(9): 480-3.
33. del Castillo FJ, Rodriguez-Ballesteros M, Martin Y, Arellano B, Gallo-Teran J, Morales-Angulo C, et al. Heteroplasmy for the 1555A>G mutation in the mitochondrial 12S rRNA gene in six Spanish families with non-syndromic hearing loss. *J Med Genet.* 2003; 40: 632-636.
34. Mkaouer-Rebai E, Tlili A, Masmoudi S, Charfeddine I, Fakhfakh F. New polymorphic mtDNA restriction site in the 12S rRNA gene detected in Tunisian patients with non-syndromic hearing loss. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008 May; 369(3): 849-52.
35. Tekin M, Duman T, Bogoclu G, Incesulu A, Comak E, Fitoz S, et al. Frequency of mtDNA A1555G and A7445G mutations among children with prelingual deafness in Turkey. *Eur J Pediatr.* 2003 Mar; 162(3): 154-8.
36. Hutchin TP, Thompson KR, Parker M, Newton V, Bitner-Glindzicz M, Mueller RF. Prevalence of mitochondrial DNA mutations in childhood/congenital onset non-syndromal sensorineural hearing impairment. *J Med Genet.* 2001 Apr; 38(4): 229-31.
37. Wu CC, Chiu YH, Chen PJ, Hsu CJ. Prevalence and Clinical Features of the Mitochondrial m.1555A>G Mutation in Taiwanese Patients with Idiopathic Sensorineural Hearing Loss and Association of Haplogroup F with Low Penetrance in Three Families. *EAR Hear.* 2007, 28(3): 332-42.

38. Lehtonen MS, Uimonen S, Hassinen IE, Majamaa K. Frequency of mitochondrial DNA point mutations among patients with familial sensorineural hearing impairment. *Eur J Hum Genet.* 2000 Apr; 8(4): 315-8.
39. Ito T, Noguchi Y, Yashima T, Ohno K, Kitamura K. Hereditary hearing loss and deafness genes in Japan. *J Med Dent Sci.* 2010; 57(1): 1-10.
40. Ballana E, Morales E, Rabionet R, Montserrat B, Ventayol M, Bravo O, et al. Mitochondrial 12S rRNA gene mutations affect RNA secondary structure and lead to variable penetrance in hearing impairment. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006; 341(4): 950-7.

Frequency of the common mitochondrial DNA (mtDNA) mutations in non-syndromic hearing impairment in southwest subpopulations of Iran

Montazer-Zohour M (PhD)¹, Hashemzadeh-Chaleshtori M (PhD)², Akbari MT (PhD)^{3*}

¹Genetics of Non-Communicable Research Center, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, I.R.Iran; ²Medical Genetic Dept., Tarbiat Modares University, Tehran, I.R.Iran.;

³Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R.Iran.

Received: 3/Sep/2011

Revised: 20/Dec/2011

Accepted: 20/Mar/2012

Background and aims: Although, most hereditary non-syndromic hearing impairment (NSHI) is due to mutation in nuclear genes, role of mtDNA mutations in causing deafness becoming much more clear in recent years. The aim of the present study was to screen the A1555G, C1494T, A3243G and A7445G mutations in non-syndromic hearing impairment patients in two provinces of southwest of Iran.

Methods: In this descriptive laboratory study, 150 subjects with acquired and prelingual autosomal recessive NSHI from Chaharmahal va Bakhtiari province and 46 unrelated probands with postlingual NSHI from Bushehr province (negative for GJB2 mutations) were screened for the presence of the common mtDNA mutations using PCR-RFLP method that followed by direct sequencing for confirming the observed mtDNA mutations.

Results: None of these mutations was found in subjects with acquired and prelingual autosomal recessive NSHI from Chaharmahal va Bakhtiari province, but mutation A1555G with frequency of 4.35% was found in postlingual NSHI patients in Bushehr province.

Conclusion: This investigation shows that apparently, mtDNA mutations play a more significant role in the etiology of postlingual NSHI in comparison with prelingual NSHI.

Keywords: Mitochondrial DNA, Mutation, Non-syndromic hearing impairment, Postlingual deafness.

Cite this article as: Montazer- Zohour M, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Akbari MT. Frequency of the common mitochondrial DNA (mtDNA) mutations in non-syndromic hearing impairment in southwest subpopulations of Iran. J Sharekord Univ Med Sci. 2012 July, Aug; 14(3): 81-91.

*Corresponding author:

Medical Genetics Dept., Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R..Iran. Tel: 00982182883831, E-mail: mtakbari@modares.ac.ir